

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年4月3日現在

機関番号：11501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23656394

研究課題名（和文）人工骨被覆ポリマーシートメンブレンの生医学的評価

研究課題名（英文）Biomedical characterization of polymer sheet membrane coated with artificial bone

研究代表者

鶴沼 英郎 (UNUMA HIDERO)

山形大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：30273303

研究成果の概要（和文）：

本研究は、PETシートを基材の上にゼラチンとリン酸カルシウムをコートした材料を、骨誘導再生用のメンブレンとして応用することを念頭に置き、本材料の組織再生機能を細胞培養実験と動物埋入試験を通じて評価した。その結果、本材料はヒト歯根膜細胞の増殖や伸展に対して好適な環境を供するだけでなく、イヌの抜歯窩の再生を有意に促すことが明らかとなった。よって、本材料は骨誘導再生用メンブレンとして極めて有望であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

This research project aims to evaluate the biomedical performance of newly developed material consisting of PET sheet and a double coating layer of gelatin and calcium phosphate with a potential application to the membrane in guided bone regeneration (GBR). The performance was evaluated through cell culture test and animal implantation test.

The present material was proved to be a promising candidate for GBR membrane because it served favorable environment for human periodontal ligament (PDL) cells to attach, extend, and proliferate, also it significantly assisted the regeneration of the extraction cavity of Beagle dogs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：材料工学・無機材料・物性

キーワード：機能性セラミックス

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、新規な生体材料を開発すべく、ポリマー表面へのリン酸カルシウムコーティング法の開発研究の過程で以下のことを見出した。

(1) ポリエステル表面にゼラチン（コラーゲン）とウレアーゼを固定化することによって、簡単な操作でリン酸カルシウムコーティングの形成が可能であること。

(2) ラットの頭蓋骨の欠損を本材料で覆うと、感染症を引き起こさずに早期の骨形成

が促されること。

(3) 周辺組織に癒着しないこと。

これらの特徴を有する材料は、現在歯科インプラントの埋入に先立って行われる、骨誘導再生(GBR)用のメンブレンとして理想的なものであることを見出していた。

2. 研究の目的

本材料を生体材料として実用化するためには、厚生労働省による薬事認可を受けるまでの長い道のりがあるが、第一に行うべきこ

とは、安全性と有効性の確認である。本研究では、

(1)ヒト歯根膜細胞の培養試験

(2)ビーグル犬への埋入試験

を通じて、安全性と有効性を確認することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)ヒト歯根膜細胞の培養試験

本材料と比較対象としての未処理 PET 上で、ヒト歯根膜細胞を7日まで培養し、増殖と細胞形態および接着について比較した。

(2)イヌ抜歯窩の再生のための埋入試験

6歳雌ビーグル犬を4頭用い、それぞれ両側の下顎の第一～第四前臼歯を抜去した後、左側の抜歯窩は本材料で覆い、右側は単に縫合してコントロールとした。手術後14日および30日後に実験部を摘出し、組織切片を作成して比較した。

4. 研究成果

(1)ヒト歯根膜細胞の培養試験

図1に(a)未処理 PET および(b)本材料上で7日間培養した細胞の蛍光顕微鏡写真を示す。

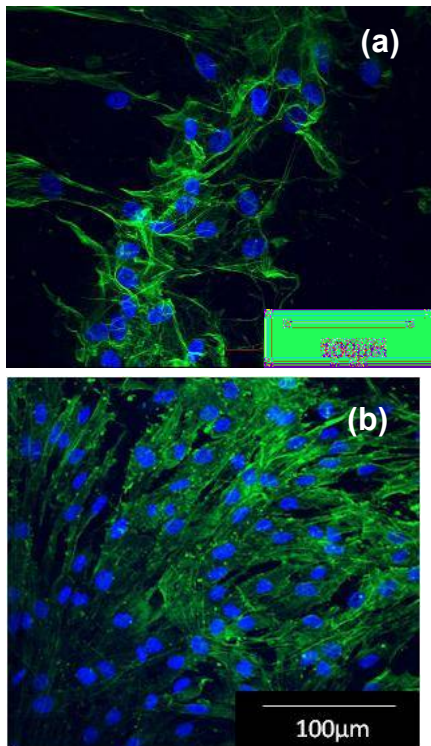


図1 (a)未処理 PET および(b)本材料上で7日間培養したヒト歯根膜細胞の蛍光顕微鏡写真

図中、青い点は細胞核、緑色の部分は細胞骨格を表している。未処理 PET に比べて、本材料上では細胞の接着と伸展が進みやすかったことがわかった。ちなみに、現在骨誘導再生

や組織誘導再生で用いられている PTFE 上では、細胞は全く接着しない。

(2)動物埋入試験

図2に30日経過後の実験部の外観を示す。

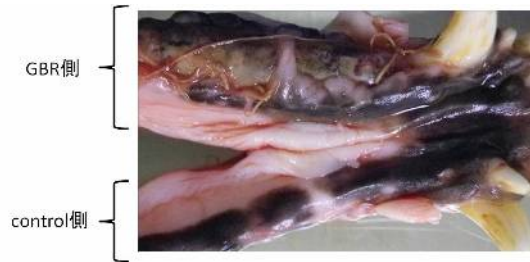


図2 手術後30日経過後の実験部の外観

メンブレンを埋入した GBR 側の歯槽骨幅が、肉眼でも明瞭に判るほど広がっている。この実験部の組織写真を図3に示す。

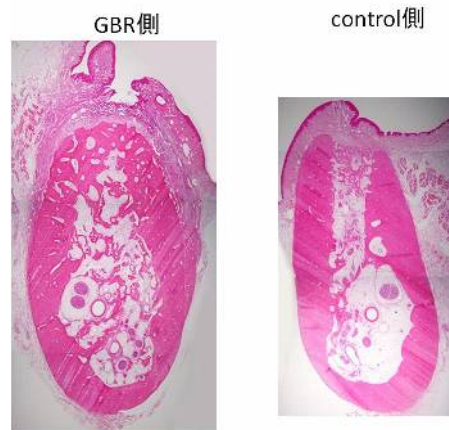


図3 手術後30日経過後の実験部の組織写真

コントロール側では、抜歯窩内にわずかな量の骨形成が見られるにすぎないが、メンブレンを使用した GBR 側ではすでに新生骨と既存骨との区別がつかないほどの骨形成が進んでおり、また歯槽骨幅も広がっていることがわかる。

全16カ所の手術部位について画像解析により新生骨形成量を比較したところ、次ページ図4に示すように、平均して約6倍の差異が認められた。特に、手術後14日の段階で新生骨形成量に大きな差異がみられたことから、本材料は早い段階における骨形成促進作用があるものと思われた。

本材料の組織再生促進作用については、すでに骨芽細胞の増殖と分化を促す効果を有することが確かめられていることに加え、前節に記したように、軟組織の再生に関わる歯根膜細胞との親和性も高いことも一因と考

えられる。

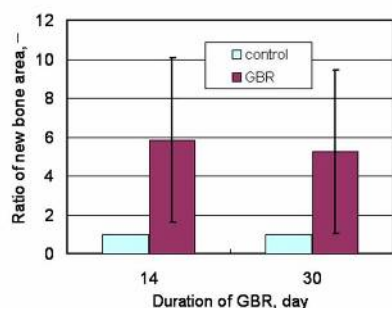


図 4 本材料の新生骨形成促進効果

また、組織写真を詳細に検討したところ、図 5 に示すように、本材料を用いて再生した歯槽骨と歯肉との間には、紫色に染まる骨原性細胞もしくは骨芽細胞とおぼしき組織が認められた。この組織が何であるかはさらなる検討を要するが、もし骨芽細胞や骨原性細胞であるならば、本材料は骨膜の再生も促したことを意味するものであり、これまでの材料にはない画期的な機能を有することになる。

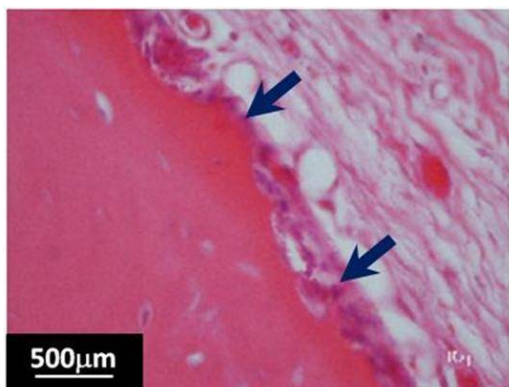


図 5 本材料を用いて再生した歯槽骨と歯肉の界面の拡大写真

また、本材料は周囲組織との癒着を起こさないため、無麻酔での摘出が可能であること、さらに裂開が起こっても感染症を併発しないなどの利点も認められた。

以上のことから、本材料は骨誘導再生および組織誘導再生のメンブレンとして有望であることが示された。さらに、脳外科や整形外科領域での応用も可能と考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

(1) (査読有) J. -B. Kim, T. Okudera, T. Furusawa, M. Sato, W. Yan, Y. Matsushima, H. Unuma and T. Sasano, " In vivo and in vitro biological efficacy of double-layer coating of titanium with gelatin and calcium phosphate", J. Ceram. Soc. Jpn., 120 巻, 2012, 589-593
DOI: 10.2109/jcersj2.120.589

(2) (査読有) 古澤利武、佐藤正明、奥寺俊允、松嶋雄太、鶴沼英郎、「ゼラチンとリン酸カルシウムで表面修飾した PET 上での MC3T3-E1 細胞の増殖と石灰化」、日本口腔インプラント学会誌、25 巻、2012, 699-707

〔学会発表〕(計 10 件)

(1) 鶴沼英郎、「酵素反応を利用した無機材料合成—形態制御と生体材料への応用—」、日本化学会第 93 春季年会(招待講演)、2013 年 3 月 24 日、滋賀県草津市

(2) 鶴沼英郎、「水溶液を反応場としたセラミックスの形態制御合成と応用の研究」、日本セラミックス協会 2013 年年会(招待講演)、2013 年 3 月 18 日、東京

(3) 古澤利武、佐藤正明、鶴沼英郎、「可溶性リン酸カルシウムコートインプラントの MC3T3-E1 細胞への影響」、日本口腔インプラント学会東北北海道支部学術講演会、2012 年 11 月 4 日、福島市

(4) 古澤利武、佐藤正明、奥寺俊允、鶴沼英郎、「可溶性リン酸カルシウムコートインプラントの骨親和性について」、日本口腔インプラント学会東北北海道支部学術講演会、2012 年 11 月 4 日、福島市

(5) 古澤利武、佐藤正明、奥寺俊允、鶴沼英郎、「抜歯直後に応用した PET/ゼラチン/SCP メンブレンの GBR 効果」、2012 年バイオマテリアルシンポジウム、2012 年 10 月 24 日、仙台市

(6) 古澤利武、佐藤正明、奥寺俊允、門間康祐、松嶋雄太、鶴沼英郎、「ゼラチンとリン酸カルシウムをコートしたチタンの in vitro および in vivo 評価」、日本セラミックス協会 2012 年年会、2012 年 3 月 21 日、京都市

(7) 古澤利武、佐藤正明、鶴沼英郎、奥寺俊允、「可溶性リン酸カルシウムコート (SCP) 非吸収性メンブレンの GBR 効果」、日本バイオマテリアル学会、2011 年 11 月 21 日、京都市

(8) T. Furusawa, M. Sato, H. Unuma, " Non-absorbable GBR membrane based on PET sheet coated with readily soluble calcium phosphate", Asian BioCeramics 2011, 2011 年 11 月 11 日、つくば市

(9) 鶴沼英郎、「水溶液反応場でのセラミックプロセスの多様性と可能性」、粉体粉末冶金協会秋季研究発表会(招待講演)、2011

年 10 月 26 日、大阪府吹田市

(10) 鵜沼英郎、「ゼラチンとリン酸カルシウムを被覆した PET 系骨誘導再生用メンブレン」、第 58 回高分子討論会（招待講演）、2011 年 9 月 29 日、岡山市

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：生体用インプラント材とその製造方法

発明者：鵜沼英郎、古澤利武、巖偉琪

権利者：山形大学

種類：特許

番号：特願 2011-156272

出願年月日：2011 年 7 月 15 日

国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鵜沼 英郎 (UNUMA HIDERO)

山形大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：30273303